

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DISCIPLINA DE METODOLOGIA APLICADA A CONCLUSÃO DE CURSO

**ACHADOS PATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS DE BUGIOS COM
TOXOPLASMOSE**

Luiza Presser Ehlers

PORTO ALEGRE

2016/1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DISCIPLINA DE METODOLOGIA APLICADA A CONCLUSÃO DE CURSO

**ACHADOS PATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS DE BUGIOS COM
TOXOPLASMOSE**

Autor: Luiza Presser Ehlers

Monografia apresentada à
Faculdade de Veterinária como
requisito parcial para obtenção
da Graduação em Medicina
Veterinária

Orientador (a): Luciana Sonne

PORTO ALEGRE

2016/1

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por terem aberto mão de muitas coisas para proporcionar a educação que tenho hoje e por todo o apoio durante o longo tempo da graduação. Aos dois por todo amor despendido a mim e por toda a preocupação, por terem sido os meus exemplos de honestidade e caráter. Agradeço por tê-los na minha vida.

À minha irmã Letícia, por toda ajuda sempre que necessário, por todas as confidências e por todo o apoio durante a realização do trabalho.

Ao meu namorado Rafael, por todo o apoio enquanto eu escrevia o trabalho e durante todo o período da graduação, por todo o carinho, compreensão e risadas nos momentos mais estressantes da faculdade.

Aos colegas da patologia, em especial à Mônica por todo o apoio nos momentos de desespero, de correria, pelas risadas e alegrias que ajudaram a renovar as forças. Pela companhia não só nos congressos, como também, durante a vida acadêmica, mostrando ser uma amiga muito especial.

E por fim, gostaria de agradecer aos professores do SPV-UFRGS, em especial a Professora Luciana por sua orientação, pela sua disposição e incentivo para estudar o presente assunto.

RESUMO

A toxoplasmose é uma enfermidade infecciosa cosmopolita, causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, que afeta uma grande variedade de mamíferos e aves. Essa enfermidade pode causar alta mortalidade em colônias de primatas neotropicais e representar mais uma ameaça à conservação dessas espécies em cativeiro. Este trabalho tem por objetivo caracterizar a epidemiologia e lesões macroscópicas, histopatológicas e imunohistoquímicas de casos de infecção pelo protozoário *T. gondii* em bugios diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período de janeiro de 2000 a abril de 2016. Durante o período analisado, o SPV-UFRGS realizou 56 necropsias e 40 anatomopatológicos. Destas, foram diagnosticadas oito casos de toxoplasmose em bugio ruivo (*Alouatta guariba clamitans*). O baço apresentava-se moderadamente aumentado de volume com bordos arredondados. Havia hepatomegalia e em alguns casos o fígado apresentava coloração difusamente pálida. Os pulmões apresentavam-se não colabados com áreas difusas avermelhadas. Dentre os principais achados microscópicos no baço observou-se congestão acentuada e necrose difusa a multifocal acentuada. No fígado há necrose centrolobular multifocal moderada a discreta. No sistema nervoso central (SNC) observaram-se áreas multifocais discretas de hemorragia, área focal a multifocal de gliose e discreta necrose multifocal. Visualiza-se, de maneira multifocal, discreta quantidade de estruturas parasitárias como taquizoítos, de aproximadamente 5µm, e bradizoítos, de 25µm, no baço, fígado, SNC e linfonodo. As formas parasitárias foram observadas nos cortes histológicos, principalmente nas áreas com lesão e infiltrado inflamatório. No exame imunohistoquímico foi observada, multifocalmente, a marcação de estruturas parasitárias, de intensidade discreta a acentuada, livres, no citoplasma de macrófagos ou em cistos no baço, fígado, SNC, linfonodo e pulmão. Conclui-se, através dos resultados obtidos nesse trabalho, que a toxoplasmose em bugios se caracterizou por ser uma doença de curso clínico agudo, fatal e inespecífico com lesões histológicas características em diversos órgãos.

Palavras-chave: toxoplasmose, primatas neotropicais, *Toxoplasma gondii*, *Alouatta guariba clamitans*.

ABSTRACT

*Toxoplasmosis is a cosmopolitan infectious disease caused by obligate intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*, which affects a wide variety of mammals and birds. This disease can cause high mortality in colonies of primates and represent more of a threat to the conservation of these species in captivity. This work aims to characterize the epidemiology and gross lesions, histopathological and immunohistochemical cases of infection by the protozoan *Toxoplasma gondii* howlers diagnosed in Pathology Veterinary Sector of the Federal University of Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) between January 2000 and April 2016. During the reporting period, the SPV-UFRGS performed 56 necropsy and 40 biopsies. These were diagnosed eight cases of toxoplasmosis in monkey (*Alouatta guariba clamitans*). The spleen was moderately increased volume with rounded edges. There was hepatomegaly and in some cases the liver showed diffusely pale coloration. The lungs showed up with reddish diffuse areas. Among the main microscopic findings in the spleen there was marked congestion and necrosis diffuse the sharp multifocal. In the liver there is moderate multifocal centrolobular necrosis discreet. In the central nervous system (CNS) have been observed mild multifocal areas of hemorrhage, the focal area multifocal gliosis and mild multifocal necrosis. Visualizes, multifocal way, discrete amount of parasitic structures like tachyzoites of approximately 5 μ m and bradyzoites of 25 μ m, spleen, liver, CNS and lymph node, Parasitic forms were observed in histological sections, especially in areas with injury and inflammatory infiltrate. In immunohistochemical examination was observed, multifocal, marking parasitic structures, discrete intensity sharp, free in the cytoplasm of macrophages or cysts in the spleen, liver, CNS, lymph node and lung. It follows from the results obtained in this work, that toxoplasmosis in monkey was characterized for being an acute clinical course of disease, fatal and non-specific histological lesions with characteristics in various organs.*

Keyword: *toxoplasmosis, neotropical primates, *Toxoplasma gondii*, *Alouatta guariba clamitans*.*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sinais clínicos relatados em oito bugios (<i>Alouatta guariba clamitans</i>) diagnosticados com toxoplasmose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.....	22
--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Necropsia de um bugio-ruivo com toxoplasmose. Observa-se esplenomegalia.. 23
- Figura 2** – Corte histológico de fígado de um bugio-ruivo diagnosticado com toxoplasmose. Observa-se um cisto de bradizoíto de *T. gondii*. Coloração de HE, obj. 40X..... 24
- Figura 3** – Corte histológico do cérebro de um bugio-ruivo com toxoplasmose. Observa-se estruturas parasitárias de *T. gondii*. Coloração de HE, obj. 40X..... 25
- Figura 4** - Exame de imuno-histoquímica no fígado de bugio-ruivo com toxoplasmose. Há marcação positiva para *T. gondii*, observa-se cistos de bradizoítos. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 20X..... 26
- Figura 5** - Marcação positiva para *T. gondii* em bradizoíto e vários taquizoítos no cérebro de um bugio-ruivo. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X..... 26
- Figura 6** – Marcação positiva para *T. gondii* de inúmeros taquizoítos do cerebelo de um bugio-ruivo com toxoplasmose. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X..... 27
- Figura 7** – Marcação positiva para *T. gondii* do baço de um bugio-ruivo com toxoplasmose. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X..... 27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 TOXOPLASMOSE.....	10
2.1.1 Agente etiológico	11
2.1.2 Ciclo biológico.....	12
2.1.2.1 Ciclo biológico em felídeos.....	12
2.1.2.2 Ciclo biológico em hospedeiros intermediários	13
2.1.3 Epidemiologia.....	13
2.1.4 Relação hospedeiro-parasita	15
2.1.4.1 Patogenia	15
2.1.4.2 Imunidade do hospedeiro	16
2.1.4.3 Sinais Clínicos	17
2.1.5 Diagnóstico	17
2.1.5.1 Exame sorológico	18
2.1.5.2 Necropsia.....	18
2.1.5.3 Exame histopatológico.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
4 RESULTADOS	22
5 DISCUSSÃO	28
REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma enfermidade infecciosa cosmopolita, causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, que afeta uma grande variedade de mamíferos e aves (JONES *et al.*, 1983).

Os felídeos são importantes na epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* porque são os únicos hospedeiros capazes de excretar invariavelmente oocistos no ambiente (DUBEY; LINDAY; SPEER, 1998).

Dentre os animais selvagens, a toxoplasmose é responsável por um grande incremento na mortalidade de primatas não humanos em cativeiro e em populações de vida livre, já que estes comumente desenvolvem infecção aguda e fatal (CASAGRANDE *et al.*, 2013). Com base na frequência de casos relatados e em estudos experimentais, acredita-se que os primatas do Novo Mundo são muito mais suscetíveis à toxoplasmose que os do Velho Mundo (INNES, 1997; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007). Os primatas neotropicais, além de serem altamente suscetíveis à toxoplasmose, raramente sobrevivem a essa enfermidade (INNES, 1997).

Os bugios têm a capacidade de habitar pomares e bosques em grande proximidade com seres humanos e animais domésticos, facilitando a transmissão interespecífica de agentes patogênicos (FREITAS, 2011). Eles são dependentes das florestas, embora possam eventualmente deslocar-se por curtas distâncias em áreas abertas. Essa espécie se encontra sob ameaça (vulnerável) no estado do Rio Grande do Sul devido, principalmente, à destruição e à fragmentação de seus habitats (FORTES, 2008). A toxoplasmose pode causar alta mortalidade em colônias de primatas neotropicais e representar mais uma ameaça à conservação dessas espécies em cativeiro (CASAGRANDE *et al.*, 2013).

Este trabalho tem por objetivo caracterizar a epidemiologia e lesões macroscópicas, histopatológicas e imuno-histoquímicas de casos de infecção pelo protozoário *T. gondii* em bugios diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), por meio de um estudo retrospectivo e um prospectivo no período de janeiro de 2000 a abril de 2016.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma das protozoonoses mais difundidas e prevalentes no mundo, inclusive na fauna selvagem em vida livre e cativeiro. É uma das infecções parasitárias mais bem estudadas por sua importância médica e veterinária (CARNEIRO, 2014). É uma das principais doenças que podem acometer os primatas do Novo Mundo sendo já registrados vários surtos com casos de morbidade e mortalidade em diversos zoológicos e criadouros do Brasil (BOUER *et al.*, 2010). *Toxoplasma gondii* é um parasito intracelular obrigatório, pertencente ao filo *Apicomplexa* e à classe *Sporozoasida*, que possui somente os felídeos domésticos e selvagens como hospedeiros definitivos (DUBEY, 1998), de distribuição geográfica cosmopolita, com capacidade para infectar células nucleadas de uma ampla variedade de aves e mamíferos, incluindo o ser humano (JONES *et al.*, 2003). Possui ciclo de vida heteroxeno facultativo, sendo os animais homeotérmicos hospedeiros intermediários e os membros da família *Felidae* hospedeiros definitivos (TENTER, 2009).

É uma zoonose de caráter geográfico cosmopolita que acomete animais endotérmicos como hospedeiros intermediários, mas geralmente se caracteriza nos seus hospedeiros suscetíveis como uma infecção comum e doença rara, com exceção dos primatas neotropicais e marsupiais australianos, nos quais pode ser fatal (DUBEY; JONES, 2008). Os felídeos são importantes na disseminação da infecção pelo *T. gondii* em animais e também humanos no mundo inteiro, pois são os únicos animais que excretam oocistos pelas fezes no meio ambiente (DUBEY; MILLER; FRENKEL, 1970).

T. gondii foi descoberto em 1908 por Nicolle e Manceaux no roedor gundi (*Ctenodactylus gundi*) do norte da África (Tunísia) e quase ao mesmo tempo, e independentemente desse achado, Splendore encontrou esse parasita em coelhos em São Paulo, Brasil. Por esses dois achados, sugeriu-se que a distribuição geográfica dessa doença fosse de âmbito mundial (FULTON, 1967). Por esses dois achados, sugeriu-se que a distribuição geográfica dessa doença fosse de âmbito mundial (DUBEY; BEATTIE, 1988; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

Normalmente, *T. gondii* parasita o hospedeiro sem causar sinais clínicos, mas pode levar à formação de cistos latentes que podem persistir durante a vida do indivíduo. Os maiores problemas clínicos da toxoplasmose referem-se à infecção primária durante a gestação que pode resultar em infecção congênita do feto, levando a quadros neurológicos e

oculares em crianças. Em animais, podem ocorrer abortamento e mortalidade neonatal em ovinos, caprinos e suínos, o que causa perdas econômicas (DUBEY; BEATTIE, 1988).

No decorrer do século XX, vários estudos conduzidos visando a elucidar o ciclo de vida desse parasita e a cadeia de transmissão da toxoplasmose. Contudo, o ciclo biológico do *T. gondii* com o envolvimento dos felídeos como hospedeiros definitivos da toxoplasmose foi somente comprovado experimentalmente no ano de 1970 (DUBEY; BEATTIE, 1988). A partir daí, os estudos da relação hospedeiro-parasita tornaram-se cada vez mais importantes e os pesquisadores realizaram estudos experimentais em diversas ordens de mamíferos, mas em todas as pesquisas somente foi constatada a eliminação dos oocistos pelos felídeos (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

2.1.1 Agente etiológico

Toxoplasma gondii é um protozoário que pertence ao filo *Apicomplexa*, subclasse *Coccidiasina* e família *Sarcocystidae* (PEREIRA; FRANCO, 2010). *T. gondii* possui três formas infectantes: taquizoítos (em grupos), bradizoítos (em cistos teciduais) e esporozoítos (em oocistos). Frenkel denominou os termos taquizoítos e bradizoítos, formas de multiplicação assexuada do parasita, o primeiro tipo refere-se à forma de multiplicação rápida em qualquer célula dos hospedeiros intermediários e nas células não intestinais dos hospedeiros definitivos (FRENKEL, 1988). Os taquizoítos possuem forma de meia-lua, medem cerca de 2 x 6 µm e podem ser encontrados nas células dos hospedeiros em grupos, mas não envolvidos por uma membrana celular (DUBEY; LINDAY; SPEER, 1998). Um único taquizoíto por endogenia origina outros dois taquizoítos idênticos (clones) e nessas sucessivas multiplicações no interior da célula podem causar rompimento da sua membrana ocasionando necrose nos tecidos lesionados. Esta forma é frágil ao sistema imune dos hospedeiros e ação dos fármacos e, por conta disto, os taquizoítos dão origem aos bradizoítos. Essa última forma é de multiplicação lenta e está contida em centenas no interior dos cistos teciduais (DUBEY; BEATTIE 1988).

Então, um cisto tecidual de *T. gondii* é uma coleção de inúmeros bradizoítos circundados por uma membrana bem definida, com cerca de 20µm de diâmetro. Os cistos teciduais variam de tamanho; os cistos cerebrais geralmente são circulares e raramente alcançam o diâmetro de 60µm, enquanto os cistos intramusculares são alongados e podem ter 100µm de comprimento (DUBEY; LINDAY; SPEER, 1998). Diferentemente dos taquizoítos, os cistos teciduais pela sua membrana externa são resistentes ao sistema imune do hospedeiro

e à ação dos fármacos; e é forma terminal desse parasita que pode permanecer intacto por inúmeros anos no organismo do animal sem causar sinais clínicos da toxoplasmose (em infecção crônica ou latente). Esses cistos, embora possam ser desenvolvidos em órgãos viscerais incluindo pulmões, fígado e rins, ocorrem em maior frequência em tecidos nervosos e musculares como o cérebro, olhos (retina), músculo esquelético e cardíaco (DUBEY; BEATTIE, 1988).

2.1.2 Ciclo biológico

2.1.2.1 Ciclo biológico em felídeos

O ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* em hospedeiros definitivo (*Felidae*) difere do ciclo que ocorre nos hospedeiros intermediários. Os felídeos excretam oocistos de *T. gondii* nas fezes 3 a 10 dias após ingerir bradizoítos, ≥ 18 dias após ingestão de oocistos esporulados, e ≥ 13 dias após ingerir taquizoítos. O ciclo induzido pela ingestão de bradizoítos é o mais eficiente, pois quase todos os felídeos alimentados por cistos teciduais eliminam oocistos, enquanto os que ingerem taquizoítos ou oocistos eliminam menos de 30% de oocistos (DUBEY, 1998).

Na ingestão de cistos teciduais por felídeos, a sua parede é dissolvida por enzimas proteolíticas do estômago e intestino delgado iniciando o desenvolvimento de numerosas gerações de *T. gondii*. Cinco tipos morfológicamente distintos (A a E) são desenvolvidos nas células epiteliais intestinais antes da gametogonia (DUBEY; BEATTIE 1988). Os gametas do *T. gondii* são produzidos pela gametogonia no intestino de felídeos e os gametas masculinos são denominados microgametas e os gametas fêmeas macrogametas (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). A fertilização desses dois gametas originará os zigotos que serão oocistos, e esses posteriormente serão eliminados no meio ambiente pelas fezes; no período de 2 a 5 dias se tornarão esporulados e infectantes em condições ideais de temperatura, umidade e aerobiose (DUBEY; BEATTIE 1988). Os oocistos não-esporulados são semi-esféricos a esféricos e possuem de 10 x 12 μ m de diâmetro (DUBEY, 1998). Os oocistos esporulados são semi-esféricos a elipsoidais e possuem cerca de 11 a 13 μ m de diâmetro. Esses oocistos infectantes possuem no seu interior dois esporocistos e quatro esporozoítos, e cada esporocisto mede em torno de 6 x 8 μ m (DUBEY; LINDSAY; SPEER 1998).

Ao contrário de muitos outros coccídios, os oocistos de *T. gondii* são menos patogênicos e menos infecciosos no hospedeiro definitivo (felídeos), em comparação com

hospedeiros intermediários (outros mamíferos e aves). Por exemplo, felinos que ingeriram 10 oocistos não se infectaram, em contraponto com um lote de porcos e ratos que ingeriram um oocisto que resultou em uma infecção (DUBEY *et al.*, 2011, DUBEY *et al.*, 1996, DUBEY, 1996a; DUBEY, 1996b; DUBEY, 1996c). Milhões de oocistos são produzidos por causa da multiplicação profusa de *T. gondii* no intestino felino, geralmente sem sinais clínicos. (DUBEY; FRENKEL, 1972).

Resumindo, nos felídeos, há o desenvolvimento enteroepitelial (fase assexuada) do parasita com a formação de oocistos (DUBEY, 1996). Porém, nesses animais, além da multiplicação intestinal sexuada, ocorre também a multiplicação extra-intestinal assexuada (taquizoítos e bradizoítos), paralela ou independente do desenvolvimento intestinal (MILLER; FRENKEL; DUBEY, 1972).

2.1.2.2 Ciclo biológico em hospedeiros intermediários

A evolução dos toxoplasmas nos tecidos de qualquer hospedeiro compreende a invasão das células deste e a multiplicação do parasito endocelular por processo assexuado, chamado de endogenia, ou endodiogenia, que consiste em divisões binárias sucessivas (REY 2002).

No caso da ingestão de cistos teciduais por hospedeiros intermediários carnívoros, haverá o rompimento da membrana e a liberação dos bradizoítos no sistema digestório que se transformarão em taquizoítos para início de um novo ciclo de multiplicação rápida nas células (DUBEY; LINDAY; SPEER, 1998). No entanto, quando um hospedeiro suscetível ingere água ou alimento contaminados com oocistos esporulados de *T. gondii*, da mesma forma que na ingestão de oocistos teciduais, haverá o rompimento da parede desses oocistos ingeridos e a liberação dos esporozoítos infectando assim o animal (FRENKEL, 1988; DUBEY, 2008).

Em suma, nos animais não-felídeos (hospedeiros intermediários) realiza-se, unicamente, a multiplicação assexuada extra-intestinal.

2.1.3 Epidemiologia

A distribuição da toxoplasmose é universal. É uma das doenças mais difundidas e prevalentes do mundo, inclusive na fauna selvagem em vida livre e em cativeiro (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

Os oocistos *T. gondii* são eliminados por gatos domésticos e outros felinos selvagens, o qual resulta em contaminação generalizada do ambiente (DUBEY; BEATTIE 1988). Os gatos domésticos são considerados a principal fonte de contaminação, no instante que, estão em maior número e produzem grandes quantidades de oocistos (DUBEY; FRENKEL 1972). Os oocistos esporulados conseguem sobreviver por longos períodos sob condições ambientais moderadas, como, em solos úmidos durante meses a anos (DUBEY; BEATTIE 1988). Moscas, baratas, besouros e minhocas podem transmitir mecanicamente os oocistos do solo para o hospedeiro. Sabe-se, também, que os oocistos conseguem ficar viáveis em frutas e em legumes por longos períodos (DUBEY, 2004).

A transmissão do *T. gondii* para qualquer grupo animal pode ocorrer mediante ingestão das suas três formas infectantes. A transmissão ocorre por ingestão oral de cistos teciduais contidos nas carnes ou vísceras cruas ou mal cozidas de hospedeiros intermediários. A outra forma de transmissão também é pela via oral, pela ingestão de oocistos esporulados no ambiente, em consequência da contaminação fecal dos alimentos, vegetais, pastos, solos e água (HILL; DUBEY 2002). A transmissão também pode ocorrer pela forma transplacentária. Geralmente, menos de 1% dos animais e dos seres humanos adquirem infecção por essa via (DUBEY; JONES, 2008).

Segundo alguns autores, o *T. gondii* é mantido na natureza pela presença dos felinos, pois esses animais são responsáveis pela persistência da toxoplasmose num ecossistema (DUBEY, 1996). Há um estudo, que relatou a soropositividade de indígenas, para anticorpos anti-*T. gondii*, em tribos da Amazônia (Brasil), o que sugere a participação de felídeos selvagens na dispersão desse parasita na natureza (AMENDOEIRA *et al.*, 2003).

Contrastando com o gato doméstico, os felídeos selvagens excretam um número menor de oocistos. Entretanto, em algumas circunstâncias, os felinos selvagens também podem excretar numerosos oocistos, tornando-se importantes fontes de infecção (TENTER *et al.* 2000). Pouco é conhecido sobre o papel dos felídeos selvagens na epidemiologia da toxoplasmose e a importância do *T. gondii* como causa de mortalidade e morbidade nesses animais. Nos estudos realizados sobre a soroprevalência da toxoplasmose em felídeos de zoológicos e de criadores particulares, diversos autores sugeriram os possíveis mecanismos de transmissão envolvidos. Entre as fontes de infecção foram destacadas: Gatos domésticos livres nos zoológicos e introdução de felídeos selvagens e predação de aves e pequenos roedores (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

As espécies de zoológicos estão mais suscetíveis a contrair a toxoplasmose devido ao estresse do cativo, em conjunto, com a proximidade de felídeos selvagens e domésticos,

que podem estar eliminando oocistos de *T. gondii* nas fezes, e pelo fato de estarem recebendo carne crua ou mal cozida que apresentam cistos teciduais (DUBEY; BEATTIE, 1988). Também há a possibilidade da disseminação da doença em zoológicos pelo uso simultâneo, em recintos de felinos e de primatas, de equipamentos como luvas, botas, mangueiras de borracha e vassouras (DUBEY, 1986).

Os primatas neotropicais, além de serem altamente suscetíveis à toxoplasmose, raramente sobrevivem a essa enfermidade. Algumas hipóteses foram cogitadas, pois, durante a evolução, os primatas do Novo Mundo devido aos seus hábitos arborícolas, estiveram isolados de felídeos e, portanto, de oocistos de *T. gondii*, tornando-se mais sensíveis à doença (INNES, 1997). Em zoológicos e em criadouros, os bugios sofrem uma mudança no seu comportamento, que em vida livre é arborícola, eles ficam muitas vezes restritos ao chão do recinto, aumentando as chances de contato com as vias de transmissão, podendo assim exercer uma grande influência no desenvolvimento da doença (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

2.1.4 Relação hospedeiro-parasita

2.1.4.1 Patogenia

Existe uma larga variedade da patogenicidade em diferentes espécies hospedeiras, variando desde uma infecção inaparente a uma doença fatal. Entre os fatores relacionados, a principal é a relação do hospedeiro-parasita, que incluem a idade do hospedeiro, a genética do hospedeiro e do parasita, a rota e dose infecciosa, ou a própria espécie do hospedeiro (INNES, 1997).

A patogenicidade da infecção por *T. gondii* varia amplamente entre as diferentes espécies. Os mais vulneráveis, onde a infecção aguda é por muitas vezes fatal, incluem os marsupiais Australianos, as lebres da montanha e os primatas do Novo Mundo (GUSTAFSSON *et al.*, 1997; INNES, 1997; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003). As razões para esta alta suscetibilidade não são claras. No entanto, os dados obtidos em ensaios de proliferação de células T, de lebres da montanha, sugerem que este tipo de vertebrados não desenvolvem uma resposta imune celular eficaz para *T. gondii* (GUSTAFSSON *et al.*, 1997). Segundo Ambroise-Thomas (2001), o parasitismo é um fenômeno evolutivo, e por conseguinte, a patogenicidade e a especificidades podem mudar ao longo dos anos (EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003). Algumas hipóteses foram

cogitadas, pois, durante a evolução, os primatas do Novo Mundo devido aos seus hábitos arborícolas, estiveram isolados de felídeos e, portanto, de oocistos de *T. gondii*, tornando-se mais sensíveis à doença (INNES, 1997). No entanto, os primatas do Velho Mundo e os humanos evoluíram ao lado de membros das espécies felinas e com isso são relativamente mais resistentes ao parasita. Há vários relatos de infecções experimentais em primatas do Velho Mundo, demonstrando sua resistência à infecção por *T. gondii* (INNES, 1997).

Segundo Hill (2001), a ingestão de oocistos é a principal via de transmissão em animais e humanos. Após a ingestão dos oocistos, ocorre o excistamento dos esporozoítos de *T.gondii* no intestino delgado, e podem invadir os enterócitos em 30 minutos pós-infecção (p.i.). Os esporozoítos são transportados para a lâmina própria por um mecanismo indefinido, porém, sabe-se que o transporte não é realizado pelas células intraepiteliais (DUBEY *et al.*, 2011). Após 4 a 6 horas p.i., pode-se observar esporozoítos circulantes no sangue periférico no início da infecção, porém, a multiplicação inicial desses parasitas ocorre nos linfonodos mesentéricos e na lâmina própria do intestino (DUBEY *et al.*, 1997; DUBEY *et al.*, 2011). *Toxoplasma gondii* multiplica-se em todos os tipos de células da lâmina própria, exceto as células vermelhas do sangue, e por segundo, invadem a superfície dos enterócitos. Embora os esporozoítos possam existir ao longo do intestino delgado, existe uma preferência pela invasão no íleo (DUBEY *et al.*, 2011). Os esporozoítos rapidamente invadem e se multiplicam dentro de células vizinhas onde eles se tornam taquizoítos (BHOPALE, 2002). Posteriormente, o agente se dissemina pela corrente sanguínea para o fígado, coração, cérebro e, por via linfática, para, o baço, os linfonodos regionais e os pulmões. Com o avançar da infecção por taquizoítos, podem-se formar pequenos focos de necrose nos tecidos e ficam envoltos por uma reação predominantemente mononuclear e polimorfonuclear (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

2.1.4.2 Imunidade do hospedeiro

O sistema imune do hospedeiro desempenha claramente um papel decisivo na determinação do resultado de uma infecção por *T. gondii*, e a interação do parasita com o sistema imunitário é influenciável na suscetibilidade das espécies. É provável que nas espécies mais sensíveis, a indução dos componentes críticos da imunidade protetora é menos eficiente do que no das espécies mais resistentes (INNES, 1997).

A maioria dos trabalhos, que examinaram a resposta imune do hospedeiro em várias espécies, enfatiza a importância do INF- γ na imunidade protetora. Após a infecção inicial com

T. gondii, há uma necessidade de resposta rápida entre a multiplicação do parasita e uma indução de resposta imune adequada. A patologia observada em espécies muito sensíveis, como os marsupiais e os primatas no Novo Mundo, onde a infecção tem apresentação aguda, fatal e amplamente disseminada, é muito semelhante à observada em pacientes imunocomprometidos, em que, encontra-se a função de células T diminuída e consequentemente há perda de produção de INF- γ (INNES, 1997).

2.1.4.3 Sinais Clínicos

Nas mais de 200 espécies de aves e mamíferos que foram identificadas como hospedeiros intermediários do *Toxoplasma gondii*, os sinais clínicos variam conforme os diferentes tecidos afetados (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007). Em virtude dos sinais clínicos serem inespecíficos, o diagnóstico de toxoplasmose é difícil nos animais (BOUER et al., 2010). Letargia, anorexia, hipertermia, diarreia, dispneia, apatia incoordenação motora, linfadenite, distúrbios respiratórios, problema com sistema nervoso central (SNC), problemas oculares (retinite, uveíte), abortamentos e morte súbita são alguns dos sinais clínicos relatados em diversas espécies silvestres (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

Em um estudo, em primatas do Novo Mundo em cativeiro no Brasil, pôde-se observar, dentre os achados clínicos, apatia (40,6%), dispneia (18,7%), hipotermia (15,6%), secreção nasal serossanguinolenta ou espumosa (12,5%), anorexia (9,4%) e vômitos (9,4%), e a enfermidade denotou um caráter agudo ou hiperagudo, sendo que 40,6% dos animais morreram sem apresentar sinais clínicos. Quanto ao estado nutricional, 71,8% dos animais apresentavam o estado nutricional bom, 18,7% regular e 9,4% ruim (EIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003).

2.1.5 Diagnóstico

Em virtude dos sinais clínicos serem inespecíficos, o diagnóstico da toxoplasmose é difícil nesses animais. Faz-se necessário o uso de diagnóstico laboratorial, no momento em que, os sinais clínicos podem ser facilmente confundidos com os de outras enfermidades, como, neosporose, sarcocistose e leptospirose (BOUER et al., 2010).

A toxoplasmose pode ser diagnosticada por métodos coproparasitológicos, sorológicos e histológicos, pelo isolamento do agente (prova biológica), ou pela combinação dos métodos citados. O exame coproparasitológico visa evidenciar oocisto de *T. gondii* em

amostras de fezes de felídeos. Deve-se coletar amostras frescas no recinto do animal ou, se possível diretamente do reto. Os métodos Willis e centrífugo-flutuação, em solução de sacarose, são os melhores a serem utilizados nesses casos. Os oocistos a serem observados em microscópico óptico nessas fezes serão os não-esporulados, de difícil visualização (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007). No momento que há um resultado negativo do exame, não significa que o felino não tenha infecção pelo *T. gondii*, pois os felinos eliminam uma grande quantidade de oocistos por um curto período de tempo e, portanto o animal já pode ter eliminado os oocistos (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

2.1.5.1 Exame sorológico

De todos os recursos diagnósticos existentes, os exames sorológicos são os mais comumente utilizados para investigações epidemiológicas para toxoplasmose. Como citado anteriormente, os felinos eliminam uma grande quantidade de oocistos por um curto período de tempo, e, portanto, a infecção por *T. gondii* nesses animais é usualmente estimada por testes sorológicos que detectam anticorpos específicos ou antígenos. Esses testes, também, são aplicados para os hospedeiros suscetíveis, no entanto, um exame sorológico positivo significa que este animal foi exposto ao *T. gondii* e não necessariamente apresente toxoplasmose clínica (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

De acordo com o trabalho de Lappin et al. (1989) com felinos, observou-se que os títulos de anticorpos da classe IgG desenvolvem-se entre 2 a 4 semanas e, geralmente, mantêm-se para meses a anos, enquanto que os títulos de IgM aparecem em 2 a 3 semanas e tornam-se não detectáveis após 16 semanas de infecção. Segundo Bouer (2010), o ELISA indireto mostrou-se um teste sorológico sensível, capaz de detectar baixos títulos de anticorpo em infecções recentes, como também, após longos períodos, tanto IgG como IgM. Ainda sobre esse mesmo estudo, a detecção de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii* em primatas infectados naturalmente demonstrou que o teste de ELISA é mais sensível que o ensaio de fluorescência indireta (IFA) na detecção do parasita (BOUER *et al.*, 2010).

2.1.5.2 Necropsia

Na necropsia primatas neotropicais diagnosticados com toxoplasmose, a esplenomegalia é um dos achados macroscópicos mais comuns, além deste, há a descrição de

hemorragia intestinal, de hepatomegalia, de edema e congestão pulmonar e de aumento nos linfonodos mesentéricos (BOUER *et al.*, 2010).

Os órgãos mais afetados, em casos agudos, são os pulmões, fígado, baço, linfonodos, intestino e cérebro, cujas alterações são secundárias à necrose tecidual resultante da replicação e ruptura das células hospedeiras pelos taquizoítos (CASAGRANDE *et al.*, 2013).

2.1.5.3 Exame histopatológico

A infecção por *Toxoplasma gondii* frequentemente afeta o sistema nervoso central causando uma encefalite parasitária (DUBEY; BEATTIE, 1988; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992). Usualmente os achados microscópicos estão relacionados com processos patológicos agudos, como, edema e congestão pulmonar, pneumonia intersticial, hepatite e aumento de linfonodos mesentéricos (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992, 1992; ANDRADE *et al.*, 2007; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Infecções fatais foram caracterizadas por processos degenerativos com vacuolização, hemossiderose e áreas focal a multifocal de necrose nos pulmões, rins, fígado e nos linfonodos mesentéricos com ou sem resposta inflamatória (ANDRADE *et al.*, 2007).

Segundo o trabalho de Bouer *et al.* (2010), os achados microscópicos mais comuns de toxoplasmose em primatas, infectados naturalmente, são edema, congestão e necrose pulmonar, enterite necrótica e hemorrágica, úlceras intestinais, linfonodos hemorrágicos, necrose hepática, hiperplasia de baço, inflamação das meninges e hemorragia cerebelar. Além da presença de taquizoítos no cérebro, no intestino, no fígado, nos pulmões, nos rins e no baço. Também se observou pneumonia intersticial aguda, linfadenite, esplenite e enterite ulcerativa multifocal.

Quando a infecção torna-se crônica, nos casos em que o hospedeiro adquire resistência, os cistos de bradizoítos são visíveis em locais como cérebro, musculatura esquelética e cardíaca (CASAGRANDE *et al.*, 2013).

2.1.5.4 Imuno-histoquímica

O diagnóstico definitivo de toxoplasmose nem sempre é possível por avaliação histopatológica, uma vez que os parasitas podem não ser visualizados e quando houver

presença dos mesmos estes devem ser diferenciados de outros membros da família Sarcocystidae, como por exemplo, *Neospora caninum* (JONES *et al.*, 1983). Esta enfermidade pode ser confirmada pelo exame de imuno-histoquímica em mamíferos, bem como em primatas (EIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a identificação dos casos de toxoplasmose em bugios foram analisados os livros de registros de necropsia e anatomopatológicos do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do (SPV-UFRGS) no período de 2000 a 2015. Dados referentes à espécie, ao histórico clínico, ao sexo e à idade (aproximada) foram analisados e compilados. As alterações macroscópicas foram revisadas através do arquivo documentado de necropsia do SPV-UFRGS. Os achados macroscópicos de casos em que a necropsia não foi realizada no SPV-UFRGS, os anatomopatológicos, foram recuperados através dos históricos analisados. Foi realizado, também, um estudo prospectivo até abril de 2016. Nestes foi realizado o acompanhamento da necropsia e realizado a coleta de dados do animal (espécie, idade aproximada, sexo e dados referentes aos sinais clínicos), além da coleta sistemática de fragmentos teciduais, onde os mesmos foram armazenados em solução de formalina a 10%, e após foram processados rotineiramente para exame histológico e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Os tecidos emblocados de parafina, do estudo retrospectivo, foram recortados, na espessura de 3 μ m, e passaram novamente por processo histológico de rotina e coloração pela técnica de HE. Posteriormente, as lâminas histológicas foram avaliadas e analisadas pelo microscópio óptico. Cortes histológicos de fígado, baço, cérebro, cerebelo e linfonodo foram submetidos ao exame de imuno-histoquímica através do método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase. Para recuperação antigênica utilizou-se o método enzimático com tripsina a 0,1%, diluída em solução salina tamponada com fosfato (PBS), por 10 minutos a 37°C e após com a utilização de tampão citrato (pH 6,0) por dois minutos em microondas, deixar esfriar e posteriormente lavar com água destilada. Para bloqueio de reações inespecíficas foi utilizado leite desnatado® diluído em PBS a 5% (Molico®) por 15 minutos. Foi utilizado o anticorpo primário *T. gondii* (VMRD) na diluição de 1:1000 por 14-16 horas (*overnight*) na temperatura de 37°C. Após, as lâminas foram lavadas com água destilada e foi utilizado o anticorpo secundário (kit HRP, Dako®) por 20 minutos a temperatura ambiente e a estreptavidina (kit HRP, Dako®) por 20 minutos a temperatura ambiente. Para revelação, utilizou-se o cromógeno 3,3-diaminobenzidina (kit DAB Dako®) durante 30 segundos e, posteriormente, os cortes foram contra corados com hematoxilina. Controles positivos foram inseridos simultaneamente com as lâminas testadas e consistiam de casos positivos testados anteriormente.

4 RESULTADOS

Durante o período de 15 anos, o SPV-UFRGS realizou 56 exames de necropsias e 40 exames anatomopatológicos de bugios, das espécies *Alouatta guariba clamitans* (bugio-ruivo) e *Alouatta caraya* (bugio-preto ou bugio-do-pantanal), com identificação de oito casos de toxoplasmose, totalizando, 8,33% dos diagnósticos de bugios no SPV-UFRGS. Fêmeas representaram 62,5% (5/8) e machos 37,5% (3/8) dos casos. Em relação à espécie, todos os animais pertenciam à espécie *Alouatta guariba clamitans* (bugio-ruivo). Seis animais (75%) eram de criadouros ou de zoológicos, e dois animais (25%) eram de vida livre. Dos oito casos avaliados, sete tiveram a idade aproximada relatada, quatro animais (57,2%) eram jovens e três animais (42,8%) foram considerados adultos.

Os principais sinais clínicos relatados foram anorexia (5/8), hipertermia (4/8), apatia (3/8), dispneia (3/8), tosse (2/8), secreção nasal (2/8), abdômen distendido (2/8). Também foram relatados estertores pulmonares (1/8), epistaxe e hemoptise (1/8), dificuldade de apreensão de alimentos (1/8) (Tabela 1). A realização de exames hematológico e bioquímicos foi feita em apenas dois animais e ambos apresentaram linfopenia acentuada e aumento das enzimas AST e GGT. Um animal havia realizado o exame de soroprevalência em *Toxoplasma gondii*, e esse se apresentou positivo. Seis animais apresentavam no seu histórico a data do óbito após o aparecimento dos sinais clínicos, o tempo de evolução da doença foi de um dia (1/6), de dois dias (1/6), de quatro dias (1/6), de cinco dias (2/6) e de sete dias (1/6). Suspeita clínica foi apresentada no histórico em seis casos, com suspeita de toxoplasmose em três animais; em dois bugios foi informada possibilidade de hepatite viral e, em um caso, de pneumonia bacteriana.

Tabela 1 – Sinais clínicos relatados em oito bugios (*Alouatta guariba clamitans*) diagnosticados com toxoplasmose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.

Sinais Clínicos	N	%
Anorexia	5	62,5
Hipertermia	4	50,0
Apatia	3	37,5
Dispneia	3	37,5
Tosse	2	25,0
Secreção nasal	2	25,0
Abdômen distendido	2	25,0
Estertores pulmonares	1	12,5
Epistaxe e hemoptise	1	12,5
Dificuldade de apreensão	1	12,5

Como alterações de necropsia foram descritos estado corporal ruim (2/8) e regular (6/8), palidez de mucosas (1/8) e endoftalmia adquirida por desidratação (1/8). Os principais achados macroscópicos caracterizam-se com o baço moderadamente aumentado de volume (7/8) (Figura 1), petéquias (1/8), e com área focal de fibrose (1/8). O fígado apresentava aumento moderado de volume (4/8) e com coloração difusamente pálida (1/8), os pulmões apresentavam-se difusamente avermelhados (3/8) com hemorragia (1/8) e congestos (2/8). Na traqueia visualizava-se espuma branca (edema pulmonar) (4/8), o intestino apresentava conteúdo pastoso no lúmen (2/8), com mucosa espessada e com petéquias (1/8), o cérebro (2/8) e o cerebelo (1/8) apresentavam-se congestos. Observou-se ainda, tonsilas aumentadas de volume e avermelhadas (1/8), e constatou-se de grande quantidade de parasitas de formato cilíndrico medindo aproximadamente 1,0 cm de comprimento compatíveis com *Trypanoxyuris sp.* no ceco (1/8).



Figura 1 – Necropsia de um bugio-ruivo com toxoplasmose. Observa-se esplenomegalia.

As principais alterações histológicas no baço consistem em congestão acentuada (7/8), necrose centrofolicular difusa a multifocal de grau que varia de discreto a acentuado (6/8) e infiltrado acentuado multifocal de histiócitos (2/8). No fígado observa-se necrose de hepatócitos multifocal de grau discreto a moderado (7/8), vacuolização intracitoplasmática de hepatócitos (degeneração gordurosa) de grau discreto a acentuado (5/8), congestão difusa acentuada (1/8), com infiltrado inflamatório acentuado de linfócitos (5/8), neutrófilos (3/8) e macrófagos (4/8). Observa-se no cérebro hemorragias multifocais discreta (2/8), áreas multifocais de necrose discreta (3/8) áreas multifocais de gliose (2/8), com infiltrado de células da glia (2/8), macrófagos (5/8), linfócitos (4/8) e neutrófilos degenerados (2/8). No

cerebelo foi visualizada hemorragia discreta (2/8), área focal de gliose de grau discreto (2/8), áreas de necrose (2/8), com infiltrado multifocal de linfócitos (3/8), de macrófagos (4/8) de células da glia (1/8). Nos pulmões observa-se edema difuso (4/8), congestão difusa (2/8), enfisema (1/8), infiltrado focal discreto de neutrófilos em espaços alveolares (1/8), proliferação de pneumócitos tipo II e formação de células sinciciais no interior de alvéolos (1/8). Nos rins, infiltrado intersticial de linfócitos (5/8), plasmócitos (1/8) e neutrófilos (2/8), na adrenal, infiltrado de linfócitos (1/8); no linfonodo, rarefação linfoide (2/8) e necrose centrofolicular discreta (2/8); e, hipoplasia de medula óssea (1/8). Observa-se ainda, estruturas parasitárias de *Toxoplasma gondii* como taquizoítos, de aproximadamente 5µm, e bradizoítos, de aproximadamente 25µm, também foram visualizadas, multifocalmente, de grau discreto a moderado, no fígado (5/8) (Figura 2), no baço (4/8), no cérebro (4/8) (Figura 3), no cerebelo (2/8), no linfonodo (1/8).

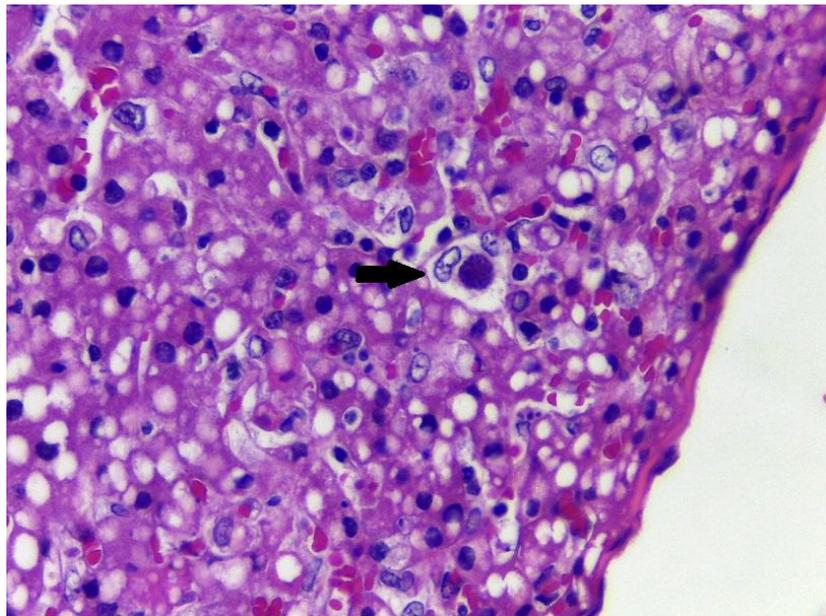


Figura 2– Corte histológico de fígado de um bugio-ruivo diagnosticado com toxoplasmose. Observa-se um cisto de bradizoíto de *T. gondii*. Coloração de HE, obj. 40X.

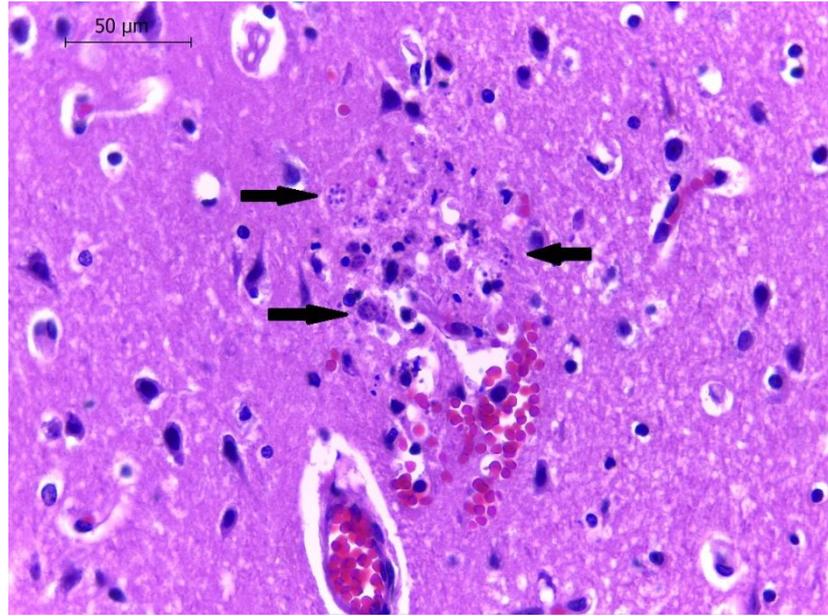


Figura 3 – Corte histológico do cérebro de um bugio-ruivo com toxoplasmose. Observa-se estruturas parasitárias de *T. gondii*. Coloração de HE, obj. 40X.

Todos os bugios avaliados pela técnica de imuno-histoquímica foram positivos para *T. gondii*. O fígado foi um dos órgãos que obteve um número maior de cortes histológicos positivos, totalizando sete casos positivos (87,5%), de grau discreto em três casos, moderado em dois casos e acentuado em dois casos (Figura 4). O cérebro, também, obteve sete casos positivos (87,5%), de grau discreto (5/8) e moderado (2/8) (Figura 5). O terceiro órgão mais acometido foi o cerebelo com cinco casos positivos (62,5%), de grau discreto (4/5) a moderado (1/5) (Figura 6). O baço mostrou-se positivo em quatro casos (50,0%), de maneira discreta em um caso e acentuada em dois casos (Figura 7). Alguns órgãos como coração, rins e pulmões, também, foram avaliados pela técnica de imuno-histoquímica, no momento em que, se apresentavam nos cortes histológicos dos demais órgãos citados. Desses órgãos, os pulmões foram testados em dois casos, e em apenas um animal foi positivo.

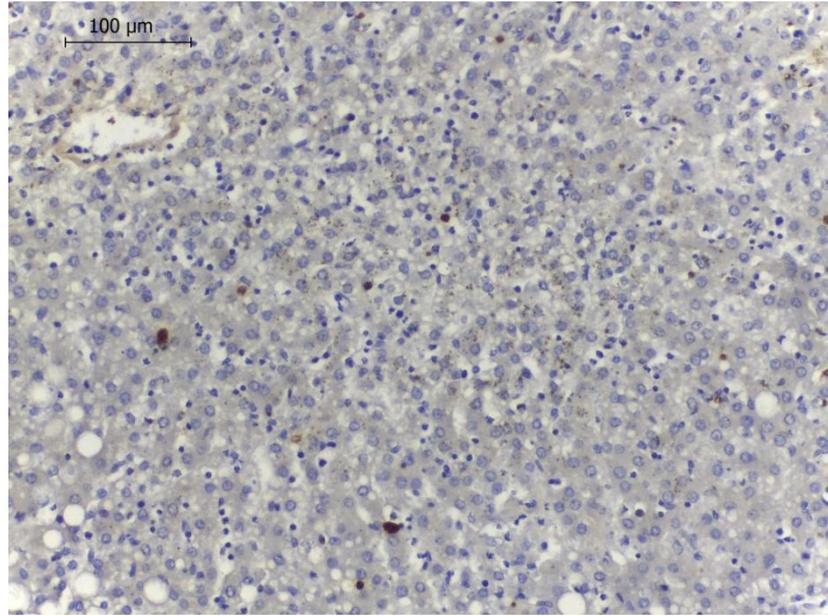


Figura 4 - Exame de imuno-histoquímica no fígado de bugio-ruivo com toxoplasmose. Há marcação positiva para *T. gondii*, observa-se cistos de bradizoítos. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 20X.

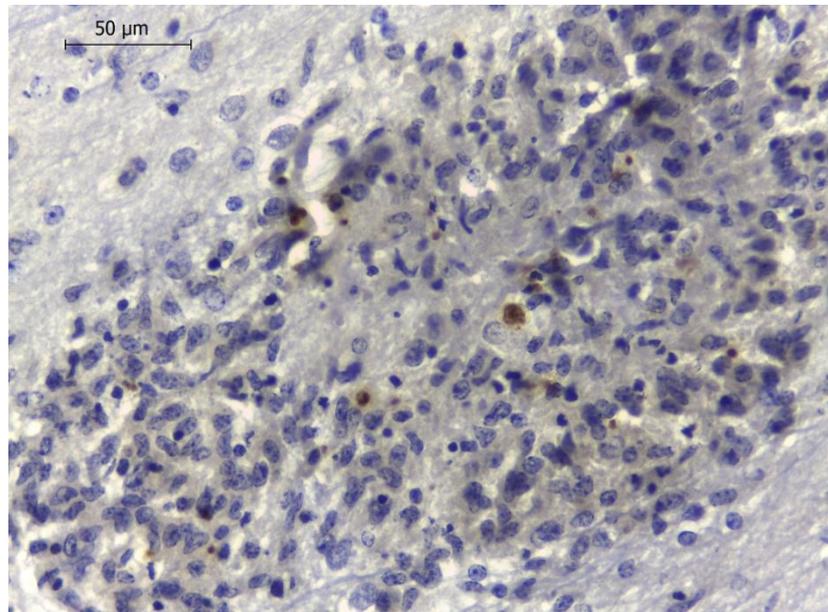


Figura 5- Marcação positiva para *T. gondii* em bradizoíto e vários taquizoítos no cérebro de um bugio-ruivo. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X.

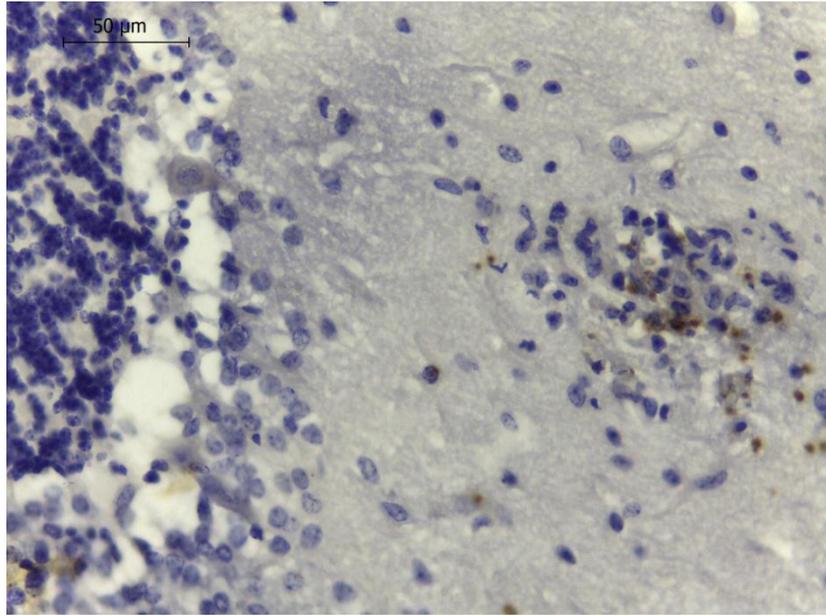


Figura 6 – Marcação positiva para *T. gondii* de inúmeros taquizoítos do cerebelo de um bugio-ruivo com toxoplasmose. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X.

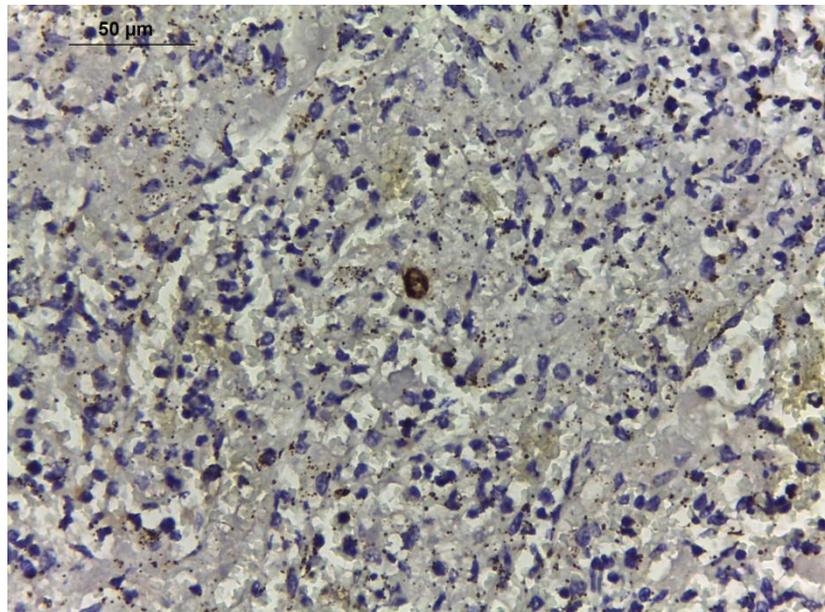


Figura 7 – Marcação positiva para *T. gondii* do baço de um bugio-ruivo com toxoplasmose. IHQ método estreptavidina-biotina ligada à peroxidase, obj. 40X.

5 DISCUSSÃO

O protozoário, *Toxoplasma gondii*, é um parasita intracelular obrigatório, que tem a capacidade de infectar todos os animais homeotérmicos, incluindo primatas não humanos. A toxoplasmose é uma das zoonoses mais importante de quase todos os animais, e os primatas neotropicais estão entre os animais suscetíveis (INNES, 1997). O trabalho descreve sinais clínicos, achados patológicos e o diagnóstico *post mortem* de bugios com toxoplasmose, incluindo a realização do diagnóstico complementar através da imuno-histoquímica. Segundo os autores, não há predileção sexual nessa enfermidade, nesse trabalho também não se encontrou diferença, onde, cinco animais eram fêmeas e três animais eram macho. Concomitantemente, a idade dos animais, não apresentou diferença significativa, como também foi reportado por Silva (2013).

Os achados clínicos como apatia, anorexia, dispneia, secreção nasal também foram reportados em outros trabalhos (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Assim como neste trabalho, foram reportados no estudo de Casagrande (2013), também, hipertermia, estertor pulmonar, distensão abdominal e tosse. Alguns sinais clínicos observados nos bugios, como apatia, anorexia e distensão abdominal, também foram observados por outros autores (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; BOUER *et al.*, 2010). No entanto, alguns autores descreveram doença aguda para hiperaguda, nos primatas neotropicais, que vieram a óbito sem a observação de sinais clínicos (EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; BOUER *et al.*, 2010). Outros autores relataram, também, diarreia e vômito (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; BOUER *et al.*, 2010).

Em seis animais (75%) foram observados estado corporal regular, enquanto que, em apenas dois animais foi considerado ruim, corroborando com estudos anteriores, como também, indicando a natureza aguda dessa enfermidade em primatas neotropicais (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003;). Nos oito casos analisados, os achados macroscópicos observados foram semelhantes com aqueles descritos na toxoplasmose em primatas e compreenderam, principalmente, esplenomegalia, edema pulmonar e hepatomegalia (DIETZ *et al.*, 1997; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; ANDRADE *et al.*, 2007; BOUER *et al.*, 2010; CASAGRANDE *et al.*, 2013). A presença de conteúdo pastoso no lúmen intestinal, também foi relatada em alguns trabalhos (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; DIETZ *et*

al., 1997). Alguns estudos reportaram, também, hemorragia no estômago, intestino e bexiga, linfadenopatia, especialmente nos linfonodos mesentéricos, além de úlceras no estômago e porção inicial do intestino (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; DIETZ *et al.*, 1997; ANDRADE *et al.*, 2007; BOUER *et al.*, 2010; CASAGRANDE *et al.*, 2013).

Os principais achados histopatológicos no baço foram semelhantes com os de alguns autores, como necrose centrofolicular difusa, que variou de discreta a acentuada, congestão difusa e acentuada, além de infiltrado composto por histiócitos em atividade fagocítica, em alguns casos (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; JUAN-SALLÉS, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Ao contrário desse trabalho, McKissick (1968) relatou necrose esplênica, especialmente, na polpa vermelha.

Assim como em outros trabalhos, foi observado edema difuso nos espaços alveolares, brônquios e bronquíolos, congestão difusa moderada, proliferação de pneumócitos tipo II de grau discreto a moderado, infiltrado focal discreto a moderado de neutrófilos e células sinciciais no interior de alvéolos além de enfisema (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; BOUER *et al.*, 2010). Esses trabalhos reportaram, também, pneumonia intersticial, infiltrado de macrófagos na luz alveolar, hemossiderose e necrose pulmonar (MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; BOUER *et al.*, 2010; CASAGRANDE *et al.*, 2013).

Em todos os casos desse trabalho foi observada necrose multifocal aleatória de hepatócitos de grau discreto a acentuado, como também foi relatada por alguns autores (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; DIETZ *et al.*, 1997; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; ANDRADE *et al.*, 2007; BOUER *et al.*, 2010; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Além desse achado histopatológico foi visualizado vacuolização intracitoplasmática difusa e moderada de hepatócitos (DIETZ *et al.*, 1997; ANDRADE *et al.*, 2007; CASAGRANDE *et al.*, 2013) e infiltrado inflamatório de neutrófilos, linfócitos e macrófagos (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998). Epiphanio (2003) relatou hemossiderose no fígado.

Entre os achados microscópicos do sistema nervoso central, visualizou-se hemorragia e necrose multifocal discreta, área focal a multifocal de gliose composta por infiltrado de células da glia, linfócitos e macrófagos, essas alterações já foram citadas em outros trabalhos

(MCKISSICK; RATCLIFFE; KOESTNER, 1968; CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003). Também foram relatadas por Juan-Sallés *et al.* (1998) e Epiphanio (2003), meningite, leptomeningoencefalite e encefalite.

A observação de estruturas parasitárias, nos cortes histológicos, variou de acordo com o tipo da técnica utilizada, na coloração por HE elas foram visualizadas multifocalmente de grau discreto a moderado, no fígado, baço, cérebro, cerebelo e linfonodo (DIETZ *et al.*, 1997; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; BOUER *et al.*, 2010). No entanto, pela técnica de imuno-histoquímica, método para diagnóstico definitivo, a quantidade de *T. gondii* variou em cortes histológicos, como também, no grau de intensidade (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; DUBEY, 2006, ANDRADE *et al.*, 2007; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Em órgãos como o fígado, o cérebro e o cerebelo foram observados o aumento do número de casos positivos. Houve mudança no grau de intensidade no baço e no fígado, que em alguns casos, passou de discreto para moderado e moderado para acentuado (DIETZ *et al.*, 1997; JUAN-SALLÉS *et al.*, 1998; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; CASAGRANDE *et al.*, 2013). Epiphanio (2003) também relatou pela técnica de IHQ, positividade em pulmões, como também, no linfonodo, coração, rins, glândula adrenal, intestino delgado e grosso, pâncreas, medula óssea, útero, ovários, tireoide, língua, tonsilas, neurohipófise e músculo esquelético. Visualizaram-se estruturas parasitárias, como os taquizoítos, principalmente, nas áreas com lesão e infiltrado inflamatório, enquanto que, os cistos de bradizoítos foram observados sem associação direta com essas áreas, corroborando com o que foi relatado por alguns autores (CUNNINGHAM; BUXTON; THOMSON, 1992; DIETZ *et al.*, 1997; EPIPHANIO; SINHORINI; CATÃO-DIAS, 2003; DUBEY, 2006).

Pôde-se observar nesse estudo a suscetibilidade dos bugios frente a essa enfermidade. A razão pela qual macacos do Novo Mundo são tão susceptíveis à infecção por *T. gondii*, não é bem elucidado. A sugestão de que a evolução dos primatas do Novo Mundo ocorreu sem a presença de felinos (hospedeiro definitivo do *Toxoplasma gondii*) no mesmo ambiente, impediu que estas espécies desenvolvessem uma resposta protetora para *T. gondii*, uma vez que não foram expostos a este parasita até tempos relativamente recentes. Em contraponto com os primatas do Velho Mundo, que evoluíram ao lado dos membros da família dos felinos, são relativamente resistentes à infecção toxoplasma (INNES, 1997).

Nesse trabalho, não foi possível comprovar a origem de infecção por *T. gondii*, pois os bugios de vida livre foram encontrados mortos e os que viviam em cativeiro não houve

descrição no histórico. É possível que os bugios, tanto os de vida livre como os de cativeiro, tenham ingerido alimentos contaminados com oocistos do *T. gondii*, no momento em que, há a possibilidade de felídeos domésticos e selvagens, transitando nos locais em que habitavam. Como citado anteriormente, os primatas neotropicais sofrem uma mudança no seu comportamento que em vida livre é arborícola, e em cativeiro (zoológicos e criadouros) ficam muitas vezes restritos ao chão do recinto, aumentando as chances de contato com as vias de transmissão, podendo assim oferecer condições especiais no desenvolvimento da doença (BOUER *et al.*, 2010). Neste sentido, é importante a construção de recintos de primatas afastados dos de felídeos e também o treinamento adequado dos tratadores para evitar a contaminação cruzada (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007). De acordo com Andrade (2007), a transmissão de *T. gondii* entre primatas infectados aos não infectados é facilmente ocorrida, também relata a infecção por aerossol e por contato em macaco-de-cheiro (*Saimiri sciureus*). Andrade (2007) também relata taquizoítos de *Toxoplasma gondii* no leite, saliva, urina e fezes desses animais. Portanto, salienta-se a necessidade de procedimentos profiláticos rigorosos para a prevenção da ocorrência desta enfermidade em colônias em cativeiro.

6 CONCLUSÃO

A toxoplasmose é uma enfermidade de curso agudo e fatal em bugios. Os principais achados clínicos descritos foram anorexia e hipertermia, mostrando-se ser uma doença com sinais clínicos inespecíficos.

Os achados macroscópicos mais frequentes foram esplenomegalia, hepatomegalia e edema pulmonar.

As principais alterações histológicas no baço consistiam em congestão e necrose centrofolicular acentuada. No fígado, moderada necrose de hepatócitos e degeneração gordurosa de grau discreto a acentuado. No SNC, hemorragias multifocais além de áreas multifocais de gliose.

O exame imuno-histoquímico demonstrou bons resultados na detecção do *Toxoplasma gondii*, demonstrando ser uma ferramenta eficaz na obtenção do diagnóstico definitivo.

REFERÊNCIAS

- AMENDOEIRA, M. R. R. *et al.* Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 6, p. 671-676, nov-dez. 2003.
- ANDRADE, M. C. R. *et al.* Toxoplasmosis in squirrel monkeys: histological and immunohistochemical analysis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p.1724-1727, nov. 2007.
- BHOPALE, G.M.. Pathogenesis of toxoplasmosis. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, Pimpri, v. 26, p.213-222, ago. 2002.
- BORST, G. H. A.; KNAPEN F. V.. Acute Acquired Toxoplasmosis in Primates in a Zoo. **The Journal of Zoo Animal Medicine**, v. 15, n. 2, p. 60-62, jun. 1984.
- BOUER, A. *et al.* Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in experimentally and naturally infected non-human primates by Indirect Fluorescence Assay (IFA) and indirect ELISA. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p.26-31, jan-mar. 2010.
- CARNEIRO, B. F. *et al.* Inquérito sorológico para *Toxoplasma gondii* em mamíferos neotropicais mantidos no centro de triagem de animais silvestres, Goiânia, Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, [s.l.], v. 43, n. 1, p.69-78, 9 abr. 2014.
- CASAGRANDE, R. A. *et al.* Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Lages, v. 33, n. 1, p.94-98, jan. 2013.
- CUBAS Z. S., SILVA J. C. R. & CATÃO-DIAS J. L. (Eds) **Tratado de Animais Selvagens** – Medicina Veterinária. 1. ed. São Paulo: Roca. 2007.
- CUNNINGHAM, A. A.; BUXTON, D.; THOMSON, K. M. An Epidemic of Toxoplasmosis in a Captive Colony of Squirrel Monkeys (*Saimiri sciureus*). **Journal of Comparative Pathology**, [s.l.], v. 107, p.207-219, 1992.
- DIETZ, H. H. *et al.* Toxoplasmosis in a colony of New World monkeys. **Veterinary Pathology**, [s.l.], v. 68, p.299-304, 1997.
- DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K.. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **The Rockefeller University Press**, Kansas City, v. 132, n. 4, p.636-662, 01 out. 1970.
- DUBEY, J. P.; FRENKEL, J.K. Cyst-Induced Toxoplasmosis in Cats. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, [s.l.], v. 19, n.1, p.155-177, fev. 1972.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220 p.
- DUBEY, J. P. *et al.* Infectivity of Low Numbers of *Toxoplasma gondii* Oocysts to Pigs. **The Journal of Parasitology**, [s.l.], v. 82, n. 3, p.438-443, jun. 1996.

DUBEY, J. P.. Pathogenicity and Infectivity of *Toxoplasma gondii* Oocysts for Rats. **The Journal Of Parasitology**, [s.l.], v. 82, n. 6, p.951-956, dez. 1996a.

DUBEY, J. P.. Infectivity and Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* Oocysts for Cats. **The Journal Of Parasitology**, [s.l.], v. 82, n. 6, p.957-961, dez. 1996b.

DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 64, n. 1-2, p.65-70, ago. 1996c.

DUBEY, J. P. Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. **Journal Eukaryot Microbiology**, [s.l.], v. 44, n. 6, p.592-602, nov-dez. 1997.

DUBEY, J. P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal For Parasitology**, Maryland, v. 28, p.1019-1024, jan. 1998.

DUBEY J. P.; LINDSAY D. S.; SPEER C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.] v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 126, p.57-72, 2004.

DUBEY, J.P. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 140, n. 1-2, p.69-75, ago. 2006.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal For Parasitology**, Beltsville, v. 38, p.1257-1278, mar. 2008.

DUBEY, J. P. The History of *Toxoplasma gondii* – The First 100 Years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, [s.l.], v. 55, n. 6, p.467-475, nov. 2008.

DUBEY, J. P. *et al.* Oral oocyst-induced mouse model of toxoplasmosis: effect of infection with *Toxoplasma gondii* strains of different genotypes, dose, and mouse strains (transgenic, out-bred, in-bred) on pathogenesis and mortality. **Parasitology**, [s.l.], v. 139, n. 01, p.1-13, 14 nov. 2011.

EPIPHANIO S.; SINHORINI I. L.; CATÃO-DIAS J. L. Pathology of Toxoplasmosis in Captive New World Primates. **Journal of Comparative Pathology**, v. 129, p. 196-204, 2003.

FORTES V. **Ecologia e comportamento do Bugio-Ruivo (*Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940) em fragmentos florestais na depressão central do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2008. 130 f. Tese de Doutorado – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008

FREITAS D. **A febre amarela silvestre e a conservação do Bugio-Preto (*Alouatta caraya*) em Bossoroca, Rio Grande do Sul, Brasil.** 2011. 36 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in Cats: Fecal Stages Identified as Coccidian Oocysts. **Science**, [s.l.], v. 168, n. 3929, p.353-353, 17 abr. 1970.

FRENKEL, J.K. Pathophysiology of toxoplasmosis. **Parasitology Today**, [s.l.], v. 4, n. 10, p.273-278, out. 1988.

FULTON, J. D. Toxoplasmosis. **Laboratory Animals**, [s.l.], v. 1, p.7-16, 1967.

GARCIA, J. L. *et al.* Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus* spp.; *Alouatta caraya*) at the Paraná river basin, Paraná State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 133, n. 4, p. 307-311, nov. 2005.

GUSTAFSSON, K. *et al.* *Toxoplasma gondii* infection in the mountain hare (*Lepus timidus*) and domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). II. Early immune reactions. **Journal Of Comparative Pathology**, [s.l.], v. 117, n. 4, p.361-369, nov. 1997.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, Maryland, v. 8, p.634-640, 25 fev. 2002

INNES E. A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 20, n. 2, p. 131-138, 1997.

JONES T.C.; HUNT R.D. Diseases Due to Protozoa. In: _____. **Veterinary Pathology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983, cap. 13, p. 719-777.

JONES, J. L.; KRUSZON-MORAN, D.; WILSON, M. *Toxoplasma gondii* Infection in the United States, 1999-2000. **Emerging Infectious Diseases**, Maryland, v. 9, n. 11, p.1371-1374, nov. 2003.

JUAN-SALLÉS, C. *et al.* Fatal Acute Toxoplasmosis in Three Golden Lion Tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **Journal of Zoo And Wildlife Medicine**, Barcelona, v. 29, n. 1, p.55-60, 1998.

LAPPIN, Michael R. *et al.* Clinical Feline Toxoplasmosis: Serologic Diagnosis and Therapeutic Management of 15 Cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 3, n. 3, p.139-143, jul. 1989.

MCKISSICK, G. E.; RATCLIFFE, H. L.; KOESTNER, A.. Enzootic Toxoplasmosis in Caged Squirrel Monkeys *Saimiri scireus*. **Pathology Veterinary**, Philadelphia, v. 5, n. 1, p.538-560, 1968.

MILLER, Nancy L.; FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.. Oral Infections with *Toxoplasma* Cysts and Oocysts in Felines, Other Mammals, and in Birds. **The Journal of Parasitology**, [s.l.], v. 58, n. 5, p.928-937, out. 1972.

PEREIRA, K. S.; FRANCO, R. M. B.; LEAL, D. A. G. Transmission of Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) by Foods. **Advances In Food And Nutrition Research**, [s.l.], p.1-19, 2010.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 379 p.

SILVA, R. C. *et al.* Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigrinus*) from an ecological station in the State of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v. 33, n. 2, p.251-253, fev. 2013.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal For Parasitology**, Hannover, v. 30, p.1217-1258, 13 set. 2000.

TENTER, A. M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 104, n. 2, p.364-369, mar. 2009.